

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
31 juillet 2003 (31.07.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 03/061685 A1

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> :  
A61K 38/19, 38/18, A61P 25/00, 9/10

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR03/00013

(22) Date de dépôt international : 6 janvier 2003 (06.01.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
02/00610 18 janvier 2002 (18.01.2002) FR

(71) Déposants et

(72) Inventeurs : POURQUIER, Didier [FR/FR]; 3bis, rue  
des Coronilles, F-34070 Montpellier (FR). MOUKOKO,  
Didier [FR/FR]; 431, avenue du Pichagret, F-34980 Saint  
Gely du Fesc (FR).

(74) Mandataire : BEZAULT, Jean; Cabinet Netter, 36, av-  
enue Hoche, F-75008 Paris (\*\*).

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,  
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,  
SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,  
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,  
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet  
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet  
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR),  
brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,  
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.*

(54) Title: THERAPEUTIC APPLICATION OF G-CSF, GM-CSF AND SCF

(54) Titre : APPLICATION THERAPEUTIQUE DU G-CSF, DU GM-CSF ET DU SCF

(57) Abstract: The invention relates to a novel therapeutic application of at least one of three factors chosen from G-CSF (Granulo-  
cyte Colony Stimulation Factor), GM-CSF (Granulocyte and Macrophage Colony Stimulation Factor) and SCF (Stem Cell Factor).  
Said factor is used in the preparation of a medicament useful as an adjunct in a reconstruction process for nervous tissue. G-CSF,  
GM-CSF and SCF are particularly useful in medicaments for the treatment of cerebral vascular events of ischaemic or haemorrhagic  
nature, cerebral traumas, spinal vascular events of an ischaemic or haemorrhagic nature and spinal trauma. The above are suitable  
for general administration in human and veterinary medicine.

(57) Abrégé : L'invention concerne une nouvelle application thérapeutique de l'un au moins des facteurs choisis parmi le G-CSF  
(Facteur de Stimulation des Colonies de Granulocytes), le GM-CSF (Facteur de Stimulation des Colonies de Granulocytes et de  
Macrophages) et le SCF (Facteur des Cellules Souches). Ce facteur est utilisé dans la préparation d'un médicament utile comme  
traitement adjuvant dans un processus de reconstruction des tissus nerveux. Le G-CSF, le GM-CSF et le SCF sont utiles notamment  
comme médicament dans le traitement des accidents vasculaires cérébraux ischémiques ou hémorragiques, des traumatismes céré-  
braux, des accidents vasculaires hémorragiques ou ischémiques de la moelle épinière, des traumatismes de la moelle épinière. Ils  
sont destinés à l'administration par voie générale, tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire.

WO 03/061685 A1

## APPLICATION THERAPEUTIQUE DU G-CSF, DU GM-CSF ET DU SCF

5

L'invention concerne une nouvelle application thérapeutique du G-CSF, du GM-CSF et du SCF, et plus particulièrement leur utilisation pour la préparation d'un médicament utile en médecine humaine ou vétérinaire.

10

Le G-CSF (abréviation de "Granulocyte Colony-Stimulating Factor", c'est à dire "Facteur de Stimulation des Colonies de Granulocytes"), le GM-CSF (abréviation de "Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor", c'est à dire "Facteur de Stimulation des Colonies de Granulocytes et de Macrophages") et le SCF (abréviation de "Stem Cell Factor", c'est à dire "Facteur des Cellule Souches") sont des facteurs de croissance. Ils correspondent à trois des classes de cytokines appelées facteurs de croissance hématopoïétique ou CSF (Colony-Stimulating Factors). Les CSF forment une famille de glycoprotéines ayant des fonctions capitales dans la formation des cellules sanguines.

25

Le G-CSF stimule la production des cellules hématopoïétiques et de manière prédominante la production de polynucléaires. Le G-CSF est une glycoprotéine et le produit de l'expression d'un gène situé sur le chromosome 17. Il est produit par différentes cellules, telles que les fibroblastes, macrophages, cellules endothéliales, cellules épithéliales. Le G-CSF est détectable dans le sang, il peut être purifié à partir de surnageants de cultures de cellules tumorales humaines.

30

Le génie biologique permet aussi de produire un allotype humain de G-CSF, le G-CSF recombinant humain (rHuG-CSF).

35

En France deux médicaments appartenant à la classe du G-CSF sont disponibles : le Neupogen® (r-metHuG-CSF, Filgrastime, commercialisé par Amgen/Produits Roche), et le Granocyte® (rHuG-CSF, Lénograstime, commercialisé par les laboratoires

40

Aventis/Chugai). Ces deux médicaments sont utilisés par voie d'injection sous-cutanée ou par perfusion intraveineuse, pour une administration systémique, à des doses généralement comprises entre 5 et 10  $\mu$ g par kilogramme de poids corporel et par jour.

Les indications actuelles du G-CSF en thérapeutique humaine sont le traitement des neutropénies chroniques sévères, la réduction des neutropénies induites par les traitements chimiothérapiques anticancéreux myélotoxiques, la réduction des neutropénies induites par les thérapeutiques myélosuppressives (chimiothérapie ou radiothérapie) suivies de greffe de moelle dans le traitement des cancers ou des leucémies, la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques pour constitution d'un greffon en vue d'une greffe de moelle (autogreffe ou allogreffe).

Il est à souligner que, dans cette dernière utilisation, l'objectif du traitement est de faire sortir de la moelle osseuse les cellules souches hématopoïétiques et de les faire passer dans le sang circulant. Ces cellules souches sont alors recueillies par cytophérèses successives et vont constituer le greffon. Il s'agit donc de mobiliser au maximum vers le sang circulant ce contingent de cellules souches hématopoïétiques qui, à l'état normal, se trouvent en quantité très réduite dans le sang circulant, ce qui ne permet pas de constituer un greffon de qualité suffisante (ceci est résumé dans le terme "mobilisation" de la moelle osseuse).

Cette technique de recueil du greffon par cytophérèse après mobilisation des cellules souches est venue remplacer avantageusement le recueil direct de la moelle osseuse par cytoponction qui nécessite une anesthésie du patient et de multiples ponctions de moelle. Le greffon ainsi constitué est ensuite transfusé au patient, dont la propre moelle a été détruite par la chimiothérapie ou la radiothérapie ; il

constitue alors la nouvelle source de production des cellules sanguines.

5 Le G-CSF est utilisé de manière quotidienne pour ces différentes indications. Son innocuité largement reconnue permet de l'utiliser aussi chez des personnes en bonne santé pour constituer des greffons de moelle dans le cadre des allo-greffes.

10 Le GM-CSF stimule à la fois la production de polynucléaires mais aussi celle des macrophages. Le gène contrôlant la production du GM-CSF est situé sur le chromosome 5. Le génie biologique permet de produire une forme recombinante humaine du GM-CSF, le rHuGM-CSF. Les indications cliniques  
15 du rHuGM-CSF sont identiques à celles de G-CSF. En France le rHuGM-CSF est disponible sous la forme du Leucomax® (Molgramostime, distribué par le laboratoire Shering-Plough/Novartis).

20 Le SCF (abréviation de "Stem Cell Factor", c'est à dire "Facteur de Cellules Souches") est lui aussi un facteur de croissance. Il agit en particulier comme facteur de croissance sur les progéniteurs hématopoïétiques, et peut mobiliser les cellules souches de la moelle vers le sang. Il  
25 agit aussi sur la différenciation et le fonctionnement des mastocytes. Il agit par le biais d'un récepteur spécifique de la famille des tyrosines kinases de type III(c-KIT). Le gène codant la production du SCF est situé sur le chromosome 12. En France le SCF n'est pas d'usage clinique quotidien, il est disponible pour des essais thérapeutiques sous  
30 forme de recombinant humain (Ancestim, Recombinant-methionyl Human Stem Cell Factor (R-metHuSCF){dénomination anglaise} sous la dénomination de Stemgen® {dénomination anglaise}, produit de la société Amgen).

35

Il est à noter que les recombinants humains du G-CSF sont efficaces sur d'autres espèces animales (Gratwohl et col : Transplantation of G-CSF mobilized allogeneic peripheral blood stem cells in rabbits. Bone Marrow Transplant 1995

;16(1): 63-68) ; Nohynek GJ et col: Comparison of potency of glycosylated and non glycosylated recombinant human granulocyte colony-stimulating factors in neutropenic and non neutropenic CD rats (Cancer Chemother  
5 Pharmacol.1997;39:259-266).

Il est à noter que de nouvelles classes de molécules peuvent augmenter le pouvoir mobilisateur des facteurs de croissance sur la moelle osseuse (Kronenwett R et col: The  
10 role of cytokines and adhesion molecules for mobilisation of peripheral blood stem cells. Stem Cells 2000;18:320-330; Pless M et col: Synergy of growth factors during mobilization of peripheral blood precursors cells with recombinant Flt3-ligand and granulocyte colony-stimulating  
15 factor in rabbits. Exp Hematol 1999;27:155-161 ; Kikuta T et col: Mobilization of hematopoietic primitive and committed progenitor cells into blood in mice by anti-vascular adhesion molecule-1 antibody alone or in combination with granulocyte colony-stimulating factor. Exp  
20 Hematol.2000;28:311-317 ; Sweeney EA et col:Increase in circulating SDF-1 after treatment with sulfated glycans. The role of SDF-1 in mobilization. Ann N Y Acad Sci 2001;938:48-52 ; Papayannopoulou R et col: Synergistic mobilization of hematopoietic progenitor cells using  
25 concurent beta1 and beta2 integrin blockade or beta2-deficient mice. Blood 2001;97:1282-1288 ; Christ O et col: Combining G-CSF with a blockade of adhesion strongly improves the reconstitutive capacity of mobilized hematopoietic progenitor cells. (Exp Hematol 2001;29:380-  
30 390).

Cependant le G-CSF lui même possède un pouvoir mobilisateur indirect de la moelle en plus de son effet prolifératif sur la lignée hématopoïétique (Levesque JP et col: Vascular  
35 cell adhesion molecule-1(CD106) is cleaved by neutrophil proteases in the bone marrow following hematopoietic progenitor cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor. Blood 2001;98:1289-1297).



Il convient de rappeler que la moelle osseuse, répartie dans les différents os de l'organisme, est le lieu de production des cellules sanguines matures (érythrocytes, plaquettes, polynucléaires, monocytes, lymphocytes). La production de ces cellules sanguines s'effectue à partir de la multiplication et de la différenciation d'une population de cellules souches (Cellule Souche Hématopoïétique, en abréviation "CSH"). Ces dernières représentent quantitativement une fraction très réduite de la population cellulaire de la moelle osseuse. Elles sont classiquement caractérisées par l'expression d'un marqueur cellulaire appelé CD34 (Cluster de Différenciation 34).

Cependant il a été décrit un autre type de cellules souches de la moelle osseuse. Cette population de cellules souches constitue, elle aussi, à l'état normal un contingent très réduit des éléments cellulaires de la moelle osseuse, mais présente la capacité de se différencier dans de multiples directions de nature conjonctive (os, cartilage, fibrotendon, muscle, graisse)(Pittenger et col: Multilineage potential of human mesenchymal stem cells. Science 1999 ; 284 : 143-147; Dennis et col: A quadripotential mesenchymal progenitor cell isolated from the marrow of an adult mouse. J Bone Miner Res 1999 ; 14(5): 700-709 ; Seshi et col: Human bone marrow stromal cell: coexpression of markers specific for multiple mesenchymal stem lineage. Blood Cell Mol Dis 2000(3): 234-246), mais aussi de nature nerveuse (Woodbury D et col: Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J Neurosci Res 2000;61:364-370 ; Sanchez-Ramos J et col: Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. Exp Neurol.2000;164:247-256 ; Mezey E et col: Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. Science 2000;290:1672-1674 ; Azizi SA et col: Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in brains of albino rats - similarities to astrocytes graft. Proc Nat Acad Sci.1998;95:3908-3913 ; Kopen GC et col: Marrow stromal

- cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. Proc Nat Acad Sci.1999;96;10171-10716 ; Brazelton TR et col: From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. Science 2000;290:1775-1779), endothéliale (Shi Q et col: Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. Blood 1998;92:362-367 ; Asahara T et col: Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for post natal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. Circ Res 1999;85:221-228) ou encore hépatique (Lagasse E et col: Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. Nature Medecine.2000;6:1229-1234).
- 15 La moelle osseuse en tant que source particulièrement puissante de cellules souches pluripotentes est clairement indiquée par le récent travail de Krause et collaborateurs (Krause D et col: Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. Cell 2001; 105:369-377), avec dans cette dernière étude un réensemencement de la totalité du tissu hématopoïétique à partir d'une unique cellule greffée, et des voies de différenciations in vivo très nombreuses avec des cellules "filles" retrouvées dans de multiples organes (foie, tube digestif, poumon, peau).
- 25 Ces cellules souches sont appelées cellules souches pluripotentes (en abréviation "CSP") ou aussi cellules souches adultes par opposition aux cellules souches provenant d'embryons.
- 30 Il est à noter que la moelle osseuse n'est pas l'unique source de cellules souches. Certaines zones du cerveau peuvent donner des cellules souches pluripotentes (Bjornson CRR et col: Turning brain into blood:a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. Science 1998;283:534-537 ; Rietze RL et col: Purification of a pluripotent neural stem cell from the adult mouse brain. Nature 2001;412:736-739), de même que le muscle (Jackson KJ et col: Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle. Proc Natl Acad Sci
- 35

USA.1999;96:14482-14486), ou la peau (Fu X et col: Dedifferentiation of epidermal cells to stem cells in vivo; Lancet 2001;358:1067-1068 ; Toma JG et col:Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. Nat Cell Biol 2001;3:778-784).

Cependant la moelle osseuse est à ce jour la source la mieux connue de cellules souches, et aussi la source la plus aisément "manipulable" pharmacologiquement, en particulier à cause de la grande expérience clinique acquise dans le domaine de l'hématologie et de la cancérologie.

Cette population de cellules souches est l'objet actuellement d'une activité de recherche intense, en particulier dans les domaines de la réparation osseuse, de la cardiologie, de la neurologie, de l'hématologie, ceci dans le cadre des domaines émergents de la médecine que sont l'ingénierie tissulaire et la thérapie cellulaire. Cependant, ces cellules souches constituant au départ une quantité de cellules particulièrement faible, les techniques utilisées font le plus souvent appel à un passage in vitro. Pour résumer, on recueille la moelle osseuse, puis in vitro on sépare le contingent des cellules souches du reste des cellules de la moelle, et ces cellules sont ensuite cultivées et multipliées toujours in vitro. Eventuellement elles sont aussi poussées artificiellement dans le sens d'une différenciation spécifique. Par la suite elles sont réinjectées ou réimplantées dans un site anatomique où elles contribuent à la reconstitution d'un tissu délabré, qui peut être un os (Bruder et col: Bone regeneration by implantation of purified culture-expanded human mesenchymal stem cells. J Ortho Res 1998 ; 16(2) : 155-162) ou bien un tendon (Awad HA et col: Autologous mesenchymal stem cell-mediated repair of tendon. Tissue Eng 1999; 5:267-277 ; Butler DL et col: Perspectives on cell and collagen composites for tendon repair. Clin Orthop 1999; 367 Suppl : S 324-332 ), du muscle cardiaque (Jackson KA et col: Regeneration of ischemic cardiac muscle and



vascular endothelium by adult stem cells. J Clin Invest 2001;107:1395-1402 ; Orlic D et col: Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Nature 2001;410:702-705). Ces techniques nécessitent cependant une collaboration avec  
5 des laboratoires très spécialisés, ce qui limite leur usage clinique quotidien.

Les cellules souches de la moelle sont aussi d'un grand intérêt dans le cadre de la thérapie génique où elles  
10 peuvent servir de support au transfert de gènes. De multiples domaines de la pathologie sont concernés (Schwarz EJ et col: Multipotential marrow stroma cells transduced to produce L-DOPA: engraftment in rat model of Parkinson disease. Hum Gene Ther 1999;10:2539-2545 ; Ding L et  
15 col: Bone marrow stromal cells as a vehicle for gene transfer. Gene Ther 1999;6:1611-1616).

Bien qu'ayant initialement prêté à discussions (Purton LE et col: Monocytes are the likely candidate "stromal" cell  
20 in G-CSF-mobilized peripheral blood. Bone Marrow Transplant. 1998;21:1075-1076), la présence d'un contingent circulant de cellules souches pluripotentes (Cellules Souches Pluripotentes Circulantes en abréviation "CSPC") est actuellement de mieux en mieux documenté (Huss R et  
25 col: Evidence of peripheral blood-derived, plastic-adherent CD34(-/low) hematopoietic stem cell clones with mesenchymal stem cell characteristics. Stem Cell 2000 ; 18(4) : 252-260 ; Zvaifler NJ et col: Mesenchymal precursor cells in blood of normal individuals; Arthritis Res 2000;2:477-488 ; Lange  
30 et col: Hematopoietic reconstruction of syngenic mice with a peripheral blood-derived, monoclonal CD34-, Sca-1+, Thyl(low), c-kit+ stem cell ligne. J Hematother Stem Cell Res. 1999 ; 8(4): 335-342 ; Kuznetsov SA et col: Circulating skeletal stem cells: J Cell Biol 2001;153:1133-1140). La  
35 voie de différenciation endothéliale de ces cellules est aussi explorée (Rafii S: Circulating endothelial precursors: mystery, reality and promise. J Clin Invest 2000;105:17-19, Boyer M et col: Isolation of endothelial cells and their progenitor cells from human peripheral

blood. J Vasc Surg 2000;31:181-189). La mobilisation de  
cellules souches depuis la moelle osseuse vers le sang par  
l'ischémie des tissus (Takahashi T et col: Ischemia-and  
cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived  
5 endothelial progenitor cells for neovascularization Nature  
Medecine 1999; 5:434-438), les traumatismes vasculaires ou  
les brûlures est aussi documenté (Gill M et col: Vascular  
trauma induces rapid but transient mobilization of  
VEGFR2(+)AC133(+) endothelial precursor cells. Cir Res  
10 2001;88:167-174). Le VEGF (Vascular Endothelial Growth  
Factor) serait un des médiateurs impliqués dans le  
processus de mobilisation (Asahara T et col: VEGF  
contributes to postnatal neovascularisation by mobilizing  
bone marrow-derived endothelial progenitor cells. EMBO J  
15 1999;18:1364-1372 ; Moore MA et col: Mobilization of  
endothelial and hematopoietic stem and progenitor cells by  
adenovector-mediated elevation of serum levels of SDF-  
1, VEGF, and angiopoietin-1. Ann N Y Acad Sci 2001;938:36-  
45). Ces derniers travaux pourraient indiquer qu'un  
20 processus de mobilisation des cellules souches de la moelle  
osseuse est un mécanisme physiopathologique déjà utilisé  
par l'organisme dans certaines situations pathologiques.

De même que pour les cellules souches de la moelle, les  
25 CSPC sont un support au transfert de gènes (Bodine DM et  
col: Efficient retrovirus transduction of mouse pluripotent  
hematopoietic stem cell mobilized into the peripheral blood  
by treatment by granulocyte colony-stimulating factor and  
stem cell factor. Blood 1994;84:1482-1491).

30 Des travaux récents sont aussi venus suggérer un mécanisme  
de recrutement des CSPC dans les processus de cicatrisation  
fibroconjonctive sur des modèles animaux in vivo (Abe R et  
col: Peripheral blood fibrocytes: Differentiation pathways  
and migration to wound sites. The J Immunol 2001;166:7556-  
35 7562 ; Bucala R et col: Circulating fibrocytes define a new  
leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. Mol  
Med.1994;1:71-81). Les CSPC sont aussi soupçonnées de  
participer à la pathogénèse de processus de fibrose

pathologique (sclérodermie)(Chesney J et col: Peripheral  
blood fibrocytes:mesenchymal precursor cells and the  
pathogenesis of fibrosis. Curr Rheumatol Rep.200;2:501-  
505). L'implication de ces cellules souches circulantes  
5 était cependant soupçonnée depuis longtemps dans certaines  
pathologies spécifiques (Labat ML et col: Monocytic origin  
of fibroblasts:spontaneous transformation of blood  
monocytes into neofibroblastic structures in  
osteomyelosclerosis and Engelmann's disease. Biomed  
10 Pharmacother.1991;45:289-299 ; Labat ML et col: Possible  
monocytic origin of chondrosarcoma: in vitro  
transdifferentiation of blood monocytes-like cells from a  
patient with chondrosarcoma into chondrocyte-like cell.  
Biomed Pharmacother 1997 ; 51:79-93). Des mécanismes  
15 immunologiques originaux viendraient aussi contrôler la  
prolifération et la différenciation de ces CSPC (Labat M L  
et col: Regulation by phagocytic T-lymphocytes of a  
(pluripotent?)organ stem cell present in adult human blood.  
A beneficial exception to self-tolerance. Biomed  
20 Pharmacother 2001;55:79-90).

A rappeler aussi qu'au cours des processus de réparation  
tissulaire, il existe d'une manière générale une  
contribution de cellules souches locales. Les cellules  
25 basales de l'épiderme contribuent ainsi à la réparation de  
la peau, les cellules satellites du muscle contribuent de  
même à la réparation musculaire, les éléments cellulaires  
de la couche basale du périoste contribuent classiquement à  
la reconstruction osseuse. Certains tissus comme l'os en  
30 cas de fracture ou la peau en cas de brûlure superficielle  
sont capables d'une reconstitution "ad integrum".

D'autres tissus, comme le coeur et le cerveau, étaient  
jusqu'à maintenant réputés incapables de se régénérer après  
35 leur destruction (infarctus du myocarde ou accident  
vasculaire cérébral). Cependant des travaux récents ont  
montré en fait une certaine capacité du tissu cardiaque à  
se régénérer à partir des cellules de la bordure des zones  
lésées (Beltrami AP et col: Evidence that human cardiac

myocytes divide after myocardial infarction. New Engl J Med 2001;344:1750-1757). L'activation de cellules souches déjà présentes au niveau du cerveau est aussi discutée (Kondo T et col: Oligodendrocytes precursor cells reprogrammed to become multipotential CNS stem cells: Science 2000;289:-1754-1757), remettant en cause des concepts anciens, en particulier le caractère irréversible de la différenciation cellulaire. La place des CSPC dans ces processus de régénération est encore discutée, mais les travaux de thérapie cellulaire récents indiquent des possibilités importantes pour le coeur (Jackson KA et col: Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. J Clin Invest 2001;107:1395-1402 ; Orlic D et col: Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Nature 2001;410:702-705 ; Kocher AA et col: Neovascularisation of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblast prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. Nature Medecine. 2001;7:430-436). Il est à remarquer que dans le cas des travaux de Kocher AA et col, le "greffon" de cellules souches se fait non pas à partir d'un prélèvement direct de moelle, mais à partir des cellules souches mobilisées depuis la moelle osseuse vers le sang, suggérant le même potentiel biologique pour les CSPC que pour les CSP de la moelle osseuse. Le travail de Jackson KA et col est aussi d'un grand intérêt puisque après irradiation et greffe de moelle de cellules souches marquées, ces travaux indiquent aussi une migration des cellules souches marquées vers le site intracardiaque de l'infarctus du myocarde. On retrouve ici la notion de recrutement spécifique des cellules souches circulantes dans l'espace tissulaire en cours de reconstruction.

Dans le domaine de la pathologie cérébrale la délivrance locale de cellules souches semble apporter un bénéfice thérapeutique (Eglitis MA et col: Targeting of bone marrow-derived astrocytes to the ischemic brain. Neuroreport 1999;10:1289-1292 ; Lu D et col: Intraarterial administration of marrow stromal cells in a rat model of traumatic brain injury. J Neurotrauma 2001;18:813-819 ; Chen J et

col: Therapeutic benefit of intracerebral transplantation  
of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in  
rats. J Neurol Sci.2001;189:49-57; Mahmood A et col:  
Intracranial bone marrow transplantation after traumatic  
5 brain injury improving functional outcome in adult rats. J  
Neurosurg 2001;94:589-595).

Au total il ressort de l'ensemble de ces observations que  
la moelle osseuse constitue une réserve majeure de cellules  
10 souches pluripotentes. Ces cellules souches sont retrouvées  
dans le sang circulant, le nombre de CSPC peut être  
augmenté par l'utilisation de facteurs de croissance tels  
que le G-CSF, le GM-CSF ou le SCF par mobilisation de ces  
cellules souches de la moelle osseuse vers le sang. Ce  
15 processus de mobilisation des cellules souches de la moelle  
vers le sang pourrait exister à l'état naturel comme  
mécanisme de réponse à des situations de souffrance ou  
d'agression tissulaire. Un mécanisme de recrutement à  
l'état naturel des CSPC est aussi discuté en particulier  
20 dans les processus de réparation fibrocicatriciel, mais a  
aussi été suggéré sur des modèles expérimentaux de  
souffrance tissulaire et des modèles pathologiques  
spécifiques. Les Demandeurs ont largement exposé dans le  
cadre de la pathologie ostéo-articulaire l'intérêt de la  
25 mobilisation des cellules souche de la moelle osseuse par  
le G-CSF et l'existence d'un recrutement de ces cellules  
dans les espaces tissulaires de reconstruction de l'os.

Différents travaux des Demandeurs ont déjà indiqué que dans  
30 le domaine de la pathologie ostéoarticulaire un mécanisme  
de recrutement local des CSPC au cours des fractures  
osseuses était mis en oeuvre en particulier par le biais de  
l'activation du périoste. Ces cellules souches, en sortant  
des vaisseaux, sont mises à la disposition du processus de  
35 reconstruction tissulaire local comme des "briques"  
contribuant à la construction d'un édifice et viennent  
compléter l'apport direct des cellules souches locales. En  
terme quantitatif, l'importance du recrutement local de  
CSPC est cependant dépendante du nombre de cellules souches



présentes dans le courant sanguin au niveau des vaisseaux situés dans la zone de reconstruction tissulaire. Comme déjà mentionné, cette population de cellules souches est, chez le sujet en bonne santé, quantitativement très réduite dans la moelle osseuse et le sang circulant. Cependant, le G-CSF, le GM-CSF et le SCF possèdent un puissant pouvoir prolifératif et de mobilisation de la moelle osseuse. Bien que la lignée hématopoïétique soit surtout concernée par ce pouvoir prolifératif, le contingent de cellules souches pluripotentes est aussi concerné ; ces différents facteurs de croissance en augmentant le nombre de CSPC dans le sang circulant peuvent mettre à la disposition du processus de reconstruction tissulaire un nombre de cellules souches supérieur à celui que la nature aurait pu fournir à l'état naturel. A partir de la même hypothèse physiopathologique l'utilité du G-CSF comme traitement adjuvant au processus de réparation osseuse et cartilagineuse était démontré dans les travaux des Demandeurs. Les travaux récents menés dans le domaine de la pathologie cardiaque semblent conforter cette hypothèse avec un bénéfice thérapeutique du G-CSF combiné au SCF pour le traitement de l'infarctus du myocarde en réduisant la surface finale de l'infarctus et en préservant la fonction cardiaque. (Orlic D et col: Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival Proc Natl Acad Sci USA 2001 ;98 :10344-10349).

Dans ce contexte, les Demandeurs ont testé in vivo l'influence d'un traitement par facteurs de croissance sur un accident vasculaire cérébral. Sur la base des données précédentes, les Demandeurs ont étudié l'influence de la stimulation de la moelle osseuse par le G-CSF, le GM-CSF et le SCF sur le processus de réparation du tissu nerveux.

Les Demandeurs ont trouvé, de manière surprenante, une nouvelle application thérapeutique du G-CSF et du GM-CSF et du SCF tel que définis plus haut. Il a été découvert, à la suite de ces travaux, que le G-CSF et le GM-CSF et le SCF pouvaient être utilisés dans la préparation d'un médicament

pour le traitement adjuvant au processus de reconstruction des tissus nerveux chez un être vivant, le médicament étant administré par voie générale.

- 5 Conformément à l'invention on peut utiliser l'un au moins de ces trois facteurs, c'est-à-dire soit un seul facteur, soit deux facteurs, soit les trois facteurs.

10 Il est à rappeler que l'accident vasculaire cérébral ischémique est la conséquence de l'obstruction d'un vaisseau sanguin irriguant le tissu cérébral. La destruction du tissu nerveux privé d'oxygène dans le territoire anatomique concerné entraîne un déficit fonctionnel de type moteur, sensitif ou cognitif ; il existe aussi des accidents vascu-  
15 laires de type hémorragique (par exemple à la suite d'une poussée d'hypertension artérielle ou par rupture d'anévrisme). Dans ce cas le parenchyme cérébral est détruit par la suffusion hémorragique, les traumatismes crâniens et les traumatismes de la moelle épinière entraî-  
20 nent des destructions directes du tissu nerveux.

On décrira maintenant un exemple expérimental.

Deux groupes d'animaux ont été constitués:

25

Un premier groupe (A) (groupe témoin) comportait 20 rats adultes jeunes, et on réalisait sur ce groupe un accident vasculaire cérébral ischémique par ligature de l'artère cérébrale moyenne durant deux heures.

30

Un deuxième groupe (B) comportait un nombre identique d'animaux de même âge et de même poids et on réalisait le même type d'accident vasculaire. Cependant, immédiatement après l'intervention et les quatre jours suivant  
35 l'intervention on procédait à une injection de rmetHuG-CSF (Neupogen® {Filgrastime}) par voie sous cutanée à la dose de 10 µg (1MU) par kilogramme de poids corporel.

Afin de travailler véritablement "en aveugle" et dans le but de ne pas influencer la qualité des gestes chirurgicaux de ligature artérielle et de retrait de ligature réalisés dans chaque groupe, le chirurgien ignorait si l'animal  
5 opéré appartenait au groupe A ou au groupe B.

Les deux groupes d'animaux étaient ensuite laissés sans autre traitement, hormis l'apport en eau et nourriture nécessaire aux besoins vitaux. Quinze jours suivant la date  
10 de l'intervention les animaux subissaient des tests fonctionnels neurologiques (Rotarod test, Score de sévérité neurologique modifié). Les résultats indiquaient une réduction des déficits fonctionnels dans le groupe B par rapport au groupe témoin.

15 L'invention concerne donc plus particulièrement l'utilisation de l'un au moins des facteurs choisis parmi le G-CSF, le GM-CSF et le SCF dans la préparation d'un médicament pour le traitement adjuvant dans des processus de  
20 reconstruction des tissus nerveux, le médicament étant destiné à une administration par voie générale. Ces facteurs trouvent ainsi une application nouvelle et intéressante dans les thérapeutiques chirurgicales et/ou médicales utilisées dans le cadre de la pathologie du système nerveux.

25 Conformément à l'invention, le G-CSF, le GM-CSF, le SCF peuvent être utilisés comme médicament dans le traitement des accidents vasculaires cérébraux ischémiques ou hémorragiques, des traumatismes cérébraux, des accidents vasculaires hémorragiques ou ischémiques de la moelle épinière, des  
30 traumatismes de la moelle épinière. Dans ces différentes applications le G-CSF, le GM-CSF, le SCF sont destinés à l'administration par voie générale.

35 Il entre également dans le cadre de l'invention d'utiliser le G-CSF, le GM-CSF, ou le SCF comme médicament destiné à l'administration par voie générale et de le combiner à au moins un autre facteur destiné à l'administration locale ou par voie générale. L'expression "administration locale"

signifie que l'administration du principe thérapeutique s'effectue sur le site anatomique où l'on souhaite reconstruire le tissu nerveux.

5 Cet autre facteur est avantageusement choisi parmi l'un au moins des facteurs suivants : BMP (Bone Morphogenetic Protein), FGF (fibroblast growth factor), EGF (epidermal growth factor), IGF (insuline-like growth factor), Insuline, KGF (keratinocyte growth factor), TGF (transforming growth factor), Interféron, Interleukine, VEGF (vascular endothelial growth factor), TNF (tumor necrosing factor), GDNF (glial cell ligne-derived neurotrophic factor), NGF (neurotrophin nerve growth factor), GM-CSF (granulocytomacrophage colony stimulating factor), HGF (hepatocyte growth factor), Erythropoïétine, PDGF (platelet-derived growth factor), Héparane Sulfate, Prostaglandines, Ostéoglycine (osteoinductive factor), BCDF (B cell differentiation factor), GDF-5 (growth and differentiation factor-5), Hormone de Croissance ; M-CSF (macrophage colony stimulating factor) ; ou tout facteur de croissance connu d'origine humaine ou animale, d'extraction ou recombinant ; tout facteur biologique renforçant le pouvoir de mobilisation des cellules souches de la moelle osseuse vers le sang circulant.

25

Pour la mise en oeuvre de l'invention, le G-CSF, le GM-CSF, le SCF sont avantageusement un recombinant humain (pour la médecine humaine), ou la Filgrastime, la Lénograstime, la Molgramostime, l'Ancestim.

30

Le G-CSF, le GM-CSF et le SCF utilisés seront de préférence d'un allotype humain dans le cadre du traitement d'une personne humaine. Le dosage utilisé sera généralement de 0,1 à 1000  $\mu$ g par kilogramme de poids corporel et par jour. De manière préférentielle on utilisera une dose de 5 à 10  $\mu$ g par kilogramme de poids corporel et par jour.

35

Le principe de l'invention veut que le G-CSF, le GM-CSF, le SCF soient administrés par voie générale, ce qui signifie que le G-CSF, le GM-CSF, le SCF, entrent dans la circulation sanguine générale. Le mode de délivrance pour obtenir  
5 une administration par voie générale peut comprendre un mode par injection intravasculaire directe, un mode par injection sous-cutanée, par injection intramusculaire, par injection intra-articulaire, une délivrance par voie digestive, injection intrapéritonéale, délivrance transpulmonaire,  
10 re, transcutanée, transbuccale, transnasale, transrectale, transconjonctivale, intrarachidienne.

Le principe biologique de l'invention est de mobiliser les CSP de la moelle osseuse vers le sang circulant. Cette  
15 augmentation du nombre de cellules souches dans la circulation sanguine permet au processus biologique de reconstruction du tissu nerveux de recruter une quantité de CSPC supérieure à la quantité de CSPC que la nature aurait pu fournir à l'état physiologique.

20

L'invention sera maintenant décrite en référence à un exemple clinique.

Dans le cadre du traitement des accidents vasculaires  
25 cérébraux, on utilisera le traitement standard de réanimation médicale, de recherche et de traitement de la cause de l'accident vasculaire cérébral.

Le traitement adjuvant comportera une première dose de 10  
30  $\mu\text{g}$  (1 MU) par kilogramme de poids corporel de G-CSF (Neupogen®, Filgrastime) qui sera injectée par voie sous-cutanée au patient dès son admission à l'hôpital. La même dose sera injectée de manière quotidienne pendant les quatre jours suivants.

35

Le même principe de traitement adjuvant pourra être appliqué aux traumatismes cérébraux et aux traumatismes de la moelle épinière.



Bien entendu l'exemple ci-dessus est donné seulement à titre illustratif et n'entend pas limiter la portée de l'invention.

Revendications

1. Utilisation de l'un au moins des facteurs choisis parmi  
5 le G-CSF (Facteur de Stimulation des Colonies de Granulocytes), le GM-CSF (Facteur de Stimulation des Colonies de Granulocytes et de Macrophages) et le SCF (Facteur des Cellules Souches) pour la préparation d'un médicament utile  
10 comme traitement adjuvant dans un processus de reconstruction des tissus nerveux chez un être vivant, le médicament étant destiné à l'administration par voie générale.

2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce  
15 que le G-CSF, le GM-CSF, le SCF sont utilisés comme médicament dans le traitement des accidents vasculaires cérébraux ischémiques ou hémorragiques, des traumatismes cérébraux, des accidents vasculaires hémorragiques ou ischémiques de la moelle épinière, des traumatismes de la moelle épinière et sont destinés à l'administration par voie générale.

20 3. Utilisation selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce que le G-CSF, le GM-CSF, le SCF sont utilisés comme médicament destiné à l'administration par voie générale et sont combinés à au moins un autre facteur destiné à l'administration locale ou par voie générale.

4. Utilisation selon la revendication 3, caractérisée en ce  
30 que cet autre facteur est choisi parmi l'un au moins des facteurs suivants : BMP (bone morphogenetic protein), FGF (fibroblast growth factor), EGF (epidermal growth factor), IGF (insuline-like growth factor), Insuline, KGF (keratinocyte growth factor), TGF (transforming growth factor), Interféron, Interleukine, VEGF (vascular endothelial growth factor), TNF (tumor necrosing factor), GDNF (glial cell  
35 ligne-derived neurotrophic factor), NGF (neurotrophin nerve growth factor), HGF (hepatocyte growth factor), Erythropoïétine, PDGF (platelet-derived growth factor), Héparane Sulfate, Prostaglandines, Ostéoglycine (osteoinductive factor), BCDF (B cell differentiation factor), GDF-

5 (growth and differentiation factor-5), Hormone de Croissance ; M-CSF (macrophage colony stimulating factor) ; tout facteur de croissance connu d'origine humaine ou animale, d'extraction ou recombinant ; tout facteur biologique renforçant le pouvoir de mobilisation des cellules souches de la moelle osseuse vers le sang circulant.

5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le G-CSF, le GM-CSF, le SCF sont des recombina

6. Utilisation selon l'une des revendication 1 à 4, caractérisée en ce que le G-CSF est la Filgrastime.

7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le G-CSF est la Lénograstime.

8. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le GM-CSF est la Molgramostime.

9. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le SCF est l'Ancestim.

10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que le médicament est utilisé avec un dosage en G-CSF, en GM-CSF, en SCF de 0,1 à 1000 µg, de préférence de 5 à 10 µg, par kilogramme de poids corporel et par jour.

11. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que le médicament est utilisé en médecine humaine.

12. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que le médicament est utilisé en médecine vétérinaire.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 03/00013

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 A61K38/19 A61K38/18 A61P25/00 A61P9/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	W.R. SCHÄBITZ ET AL.: "Recombinant granulocyte-colony stimulating factor (rG-CSF) is neuroprotective following focal transient cerebral ischemia and excitotoxicity." SOCIETY FOR NEUROSCIENCE ABSTRACTS; 31ST ANNUAL MEETING, SAN DIEGO, CA, NOVEMBER 10-15, 2001, vol. 27, no. part 2, 2001, page 2027 XP008009334	1-12
Y	* abrégé 764.11 *	1-12
X	WO 99 17798 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT ;BUSCHMANN IVO R (DE); SCHAPER WOLFGANG (D) 15 April 1999 (1999-04-15)	1-12
Y	page 8, line 2 - line 12; claims 1-9 page 9, paragraph 4 --- -/--	1-12

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the International filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

6 May 2003

Date of mailing of the International search report

14/05/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ryckebosch, A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern al Application No

PCT/FR 03/00013

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	D. ORLIC ET AL.: "Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 98, no. 18, 28 August 2001 (2001-08-28), pages 10344-10349, XP002216659 WASHINGTON, US cited in the application the whole document ---	1-12
Y	É. MEZEY ET AL.: "Turning blood into brain: Cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow." SCIENCE, vol. 290, 1 December 2000 (2000-12-01), pages 1779-1782, XP002216660 LANCASTER, PA, US cited in the application the whole document ---	1-12
A	T. TAKAHASHI ET AL.: "Ischemia-and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization." NATURE MEDICINE, vol. 5, no. 4, April 1999 (1999-04), pages 434-438, XP002216661 NEW YORK, N.Y., US cited in the application page 436, left-hand column, last paragraph -right-hand column, paragraph 2 ---	1-12
P,X	DE 100 33 219 A (UNIV HEIDELBERG) 24 January 2002 (2002-01-24)	1-12
Y	the whole document -----	1-12



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

nation on patent family members

Intern I Application No  
PCT/FR 03/00013

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 9917798	A	15-04-1999	CA	2304354 A1		15-04-1999
			WO	9917798 A1		15-04-1999
			EP	1019082 A1		19-07-2000
			JP	2001518517 T		16-10-2001
<hr/>						
DE 10033219	A	24-01-2002	DE	10033219 A1		24-01-2002
<hr/>						

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demar. internationale No  
PCT/FR 03/00013

<b>A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE</b> CIB 7 A61K38/19 A61K38/18 A61P25/00 A61P9/10		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
<b>B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE</b> Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 A61K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS</b>		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	W.R. SCHÄBITZ ET AL.: "Recombinant granulocyte-colony stimulating factor (rG-CSF) is neuroprotective following focal transient cerebral ischemia and excitotoxicity." SOCIETY FOR NEUROSCIENCE ABSTRACTS; 31ST ANNUAL MEETING, SAN DIEGO, CA, NOVEMBER 10-15, 2001, vol. 27, no. part 2, 2001, page 2027 XP008009334	1-12
Y	* abrégé 764.11 * --- -/--	1-12
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
° Catégories spéciales de documents cités: *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée  6 mai 2003		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale  14/05/2003
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé  Ryckebosch, A

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demu nternationale No  
PCT/FR 03/00013

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 99 17798 A (MAX PLANCK GESELLSCHAFT ;BUSCHMANN IVO R (DE); SCHAPER WOLFGANG (D) 15 avril 1999 (1999-04-15)	1-12
Y	page 8, ligne 2 - ligne 12; revendications 1-9 page 9, alinéa 4	1-12
Y	D. ORLIC ET AL.: "Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 98, no. 18, 28 août 2001 (2001-08-28), pages 10344-10349, XP002216659 WASHINGTON, US cité dans la demande le document en entier	1-12
Y	É. MEZEY ET AL.: "Turning blood into brain: Cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow." SCIENCE, vol. 290, 1 décembre 2000 (2000-12-01), pages 1779-1782, XP002216660 LANCASTER, PA, US cité dans la demande le document en entier	1-12
A	T. TAKAHASHI ET AL.: "Ischemia-and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization." NATURE MEDICINE, vol. 5, no. 4, avril 1999 (1999-04), pages 434-438, XP002216661 NEW YORK, N.Y., US cité dans la demande page 436, colonne de gauche, dernier alinéa -colonne de droite, alinéa 2	1-12
P,X	DE 100 33 219 A (UNIV HEIDELBERG) 24 janvier 2002 (2002-01-24)	1-12
Y	le document en entier	1-12

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs à : Membres de familles de brevets

Demande internationale No  
PCT/FR 03/00013

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9917798	A	15-04-1999	CA 2304354 A1	15-04-1999
			WO 9917798 A1	15-04-1999
			EP 1019082 A1	19-07-2000
			JP 2001518517 T	16-10-2001
DE 10033219	A	24-01-2002	DE 10033219 A1	24-01-2002